



UNIDAD ACADEMICA NAVOJOA

Evaluación del efecto en la supervivencia y respuesta inmune del producto FEEDADD, en el cultivo de *L. vannamei* en presencia de *Vibrio parahaemolyticus*.

Tesis que para obtener el grado de

MAESTRO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN BIOSUSTENTABLES

Presenta:

JAVIER RODRIGUEZ SANTOS

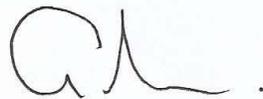
NAVOJOA SONORA JUNIO 2019

CARTA DE APROBACIÓN

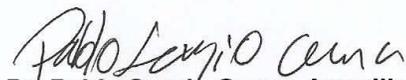
Los miembros del comité designado para revisar la tesis titulada **Evaluación del efecto en la supervivencia y respuesta inmune del producto FEEDADD, en el cultivo de *L. vannamei* en presencia de *Vibrio parahaemolyticus*** presentada por **Javier Rodríguez Santos**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que se acepte como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Sistemas de Producción Biosustentables.

Martha Elisa Rivas V.
Dra. Martha Elisa Rivas Vega

Directora de tesis



Dr. Anselmo Miranda Baeza
Revisor



Dr. Pablo Sergio Osuna Amarillas
Revisor

DEDICATORIA

A mis padres Socorro Santos y Manuel Rodríguez † por enseñarme a seguir siempre adelante y a superarme mediante el esfuerzo y perseverancia.

A mi esposa y mis hijos, Dulce, Xavier y Sofía, por promover en mí ese ánimo de superación, por contribuir con su comprensión y su apoyo para poder lograr la culminación de este proyecto de vida.

AGRADECIMIENTO

Al Señor mi Dios, por proveerme de todas las personas, conocimientos y cosas necesarias para que esta etapa de mi formación profesional se pudiera realizar.

Al CONACYT por el apoyo otorgado con número 487356 para poder cursar la maestría mediante el proyecto denominado “Evaluación del efecto en la supervivencia, respuesta inmune y actividad enzimática antioxidante del producto FEEDADD, en el cultivo de *L. vannamei* en presencia de *Vibrio parahaemolyticus*”.

A la Universidad Estatal de Sonora, por haberme aceptado en el Posgrado, por el uso de sus instalaciones y por el apoyo recibido de todo su personal, especialmente a mis maestros Dr. Anselmo Miranda Baeza, Dr. Sergio Pablo Ozuna Amarillas y especialmente a la Dra. Martha Rivas, por su apoyo y dirección para realizar este proyecto. Sin olvidar el apoyo incondicional durante el tiempo que duró este proyecto al M. C. Jesús Lizárraga.

A mis compañeros de maestría por su amistad y el tiempo que compartieron conmigo, en especial a Ana Sarahi Alegría Hernández por su apoyo incondicional para la realización de este proyecto.

A la empresa que proporciono su apoyo en especie para realizar las pruebas sugeridas.

A la unidad de producción y todo su personal por su apoyo en el seguimiento del proyecto durante el tiempo que duro el experimento en el cultivo comercia.

Al Comité de sanidad Acuícola del estado de sonora A.C, empresa donde laboro, por su apoyo incondicional que me brindo durante el tiempo que duró este proyecto.

RESUMEN

En los últimos años, las enfermedades han representado el mayor problema que enfrenta la camaronicultura, generando considerables pérdidas económicas. La presencia de enfermedades ha propiciado la disminución de inversiones en el sector acuícola, así como la pérdida de empleos. Una de las estrategias que pueden minimizar el efecto de las enfermedades en las granjas de cultivo es la estimulación del sistema inmune del camarón. Diversos estudios, realizados en condiciones de laboratorio, han demostrado que el uso de inmunoestimulantes mejoran significativamente la sobrevivencia ante el ataque de virus y de bacterias patógenas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto en la supervivencia y respuesta inmune del producto FEEDAD, en un cultivo comercial de *L. vannamei* en presencia de *Vibrio parahaemolyticus*. Se utilizó el producto FEEDADD en tres dosis 1, 2 y 3 kg/ton de alimento, así como un control sin producto. Se realizó un cultivo en estanquería rústica por 160 días, utilizando estanques de 1 ha, por triplicado para cada tratamiento, al final se evaluó peso final, FCA y supervivencia. Posteriormente se realizó un reto bacteriano, infectando a los organismos alimentados bajo los tres tratamientos con *V. parahaemolyticus*, evaluando supervivencia y conteo total de hemocitos. El uso del aditivo FEEDADD no presentó un efecto en el crecimiento, FCA ni supervivencia del camarón cultivado en estanquería rústica. El aditivo FEEDADD a una dosis de 1kg/ton de alimento presentó un efecto positivo en la supervivencia en camarones infectados con *Vibrio parahaemolyticus*, por lo cual se puede recomendar su uso para el control de esta enfermedad bacteriana, bajo las condiciones de este trabajo.

Índice general

I.	Introducción	8
I.1	Antecedentes.....	10
I.1.	Panorama de la producción de camarón	10
I.1.1.	Panorama de la producción mundial de camarón.	10
I.1.2	Panorama de la producción de camarón en México.....	10
I.1.2.	Enfermedades del camarón.....	13
I.1.3.	Sistema inmune del camarón	16
I.1.4.	Estrés oxidativo	16
I.1.5.	Inmunoestimulantes en el cultivo de camarón.	19
I.2	Justificación.....	21
I.3	Planteamiento del problema	22
I.4.	Hipótesis	25
I.5.	Objetivos.....	26
	General.....	26
	Específicos	26
II.	Metodología	27
II.1.	Ubicación.....	27
II.2.	Diseño experimental.....	28
II.3.	Evaluación del producto FEEDAD en un cultivo comercial.....	29
II.3.1	Preparación y siembra de los organismos.....	29
II.3.2.	Inclusión del aditivo	30
II.3.3.	Alimentación.....	30
II.3.	Monitoreo de parámetros físico químicos.....	31
II.3.2.	Monitoreo de parámetros productivos.....	31
II.3.3.	Monitoreo de salud	31
II.4.	Reto bacteriano de <i>L. vannamei</i> infectado con <i>V. parahemolyticus</i> en condiciones controladas.....	32
II.4.1.	Transporte de los organismos	32
II.4.2	Reto Bacteriano	32
II.5.	Análisis estadístico.....	35
III.	Resultados y Discusión	36
IV.	Conclusiones	45

V. Recomendaciones	46
VI. Literatura citada	47

I. Introducción

En el mundo, la acuicultura ha crecido notablemente en los últimos años, pasando de menos de un millón de toneladas en la década de 1950, a 80 millones de toneladas en 2016 con un valor de 231,600 millones de dólares. A pesar de que la producción por pesca de captura dejó de crecer en la década de 1980, el sector acuícola mundial ha mantenido una tasa de crecimiento, registrando un incremento medio anual de 5.8% de 2001 al 2016 (FAO, 2018).

De los 80 millones de toneladas de especies comestibles cultivadas que se produjeron en 2016, los crustáceos representaron el 9.87 % (7.9 millones de toneladas) de la producción acuícola, en volumen, pero el 24.65 % (57,100 millones de dólares) en valor (FAO, 2018). Del total de crustáceos producidos por acuicultura en el mundo, el camarón blanco representó el 53 % en 2016, con 4156 millones de toneladas.

En México, el camarón, por su volumen se encuentra posicionado en el lugar número cuatro de la producción pesquera; sin embargo, considerando su valor económico, se ubica en el primer lugar. La tasa media de crecimiento anual de la producción en los últimos 10 años es de 0.15%. El camarón ocupa el primer lugar en las exportaciones de especies acuáticas. Los principales destinos de éste producto son Estados Unidos de América, Japón y España (CONAPESCA, 2013).

Del año 2004 al 2009, la producción de camarón de acuicultura en México, paso de 72,277 ton a 133,282, representando el 67.8 % del total de la producción de camarón de pesca y acuicultura, alcanzando su máximo histórico en este año, disminuyendo hasta 60,292 toneladas entre 2010 y 2013 (CONAPESCA 2013), debido al impacto de

las enfermedades, entre los principales patógenos destacan el virus de la mancha blanca (2010-2012) y la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* (2013).

En los últimos años, las enfermedades han representado el mayor problema que enfrenta la camaronicultura, generando considerables pérdidas económicas. La presencia de enfermedades ha propiciado la disminución de inversiones en el sector acuícola, así como la pérdida de empleos.

Una de las estrategias que pueden minimizar el efecto de las enfermedades en las granjas de cultivo es la estimulación del sistema inmune del camarón. Diversos estudios, realizados en condiciones de laboratorio, han demostrado que el uso de inmunoestimulantes mejoran significativamente la sobrevivencia ante el ataque de virus y de bacterias patógenas (Rodríguez *et al*, 2000).

A la fecha, en las granjas comerciales no se cuenta con un protocolo para el uso de aditivos comerciales en base a la respuesta inmune de los organismos en cultivo, por lo cual, el presente trabajo propone evaluar el uso de un producto comercial, estableciendo la dosis ideal que permita el control de la mortalidad de *L. vannamei* en presencia de *V. parahaemolyticus*

El aditivo FEEDAD es un producto comercial 100% natural coadyuvante en la alimentación de aves y cerdos. Es un producto elaborado con ingredientes biotecnológicos, bacterias, enzimas, minerales, productos botánicos, aceites esenciales, vitaminas, y acidificantes.

I.1 Antecedentes.

I.1. Panorama de la producción de camarón

I.1.1. Panorama de la producción mundial de camarón.

En el mundo, la acuicultura ha crecido notablemente en los últimos años, pasando de menos de un millón de toneladas en la década de 1950, a 80 millones de toneladas en 2016 con un valor de 231,600 millones de dólares. A pesar de que la producción por pesca de captura dejó de crecer en la década de 1980, el sector acuícola mundial ha mantenido una tasa de crecimiento, registrando un incremento medio anual de 5.8% de 2001 al 2016 (FAO, 2018).

De los 80 millones de toneladas de especies comestibles cultivadas que se produjeron en 2016, los crustáceos representaron el 9.87 % (7.9 millones de toneladas) de la producción acuícola, en volumen, pero el 24.65 % (57,100 millones de dólares) en valor (FAO, 2018).

I.1.2 Panorama de la producción de camarón en México

El camarón por su volumen se encuentra posicionado en el lugar 2 de la producción pesquera en México; con un volumen de producción en 2017 de 227,929 toneladas de las cuales 150,076 correspondieron solamente a la producción por acuicultura y el resto a pesquerías.

Los principales estados productores son Sonora y Sinaloa, aportando el 73.54 % del total de la producción nacional (Tabla1). Por su valor comercial, lo encontramos en el primer lugar. La tasa media de crecimiento anual de la producción en los últimos 10 años es de 1.67%. En las exportaciones se encuentra en el lugar número 1 de las

especies pesqueras, siendo Estados Unidos de América, Vietnam y Francia sus principales destinos (CONAPESCA, 2017)

Tabla 1. Serie histórica de la producción de camarón en México

TONELADAS 2008 - 2017										
ENTIDAD	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
TOTAL	196,289	196,456	167,015	184,123	161,852	127,517	158,128	212,684	206,087	227,929
SINALOA	60,441	55,838	59,498	79,020	63,870	61,002	67,128	84,454	80,310	84,426
SONORA	96,557	101,045	58,447	52,424	47,116	25,639	38,938	69,595	67,084	83,194
NAYARIT	9,567	8,645	9,114	16,255	13,831	9,085	9,729	11,229	17,661	20,837
TAMAULIPAS	13,497	11,801	16,182	11,618	12,205	9,192	11,305	13,907	14,185	13,210
BAJA CALIFORNIA SUR	4,264	4,464	6,150	6,946	7,652	5,920	10,405	13,276	10,816	9,081
CAMPECHE	3,611	6,121	8,155	7,995	7,647	5,130	6,846	7,182	4,976	4,871
COLIMA	953	1,184	1,327	1,203	1,946	1,878	1,892	3,396	3,532	3,714
VERACRUZ	2,037	2,086	2,479	1,829	2,020	2,038	2,330	3,630	3,365	3,268
CHIAPAS	1,911	1,842	1,724	2,460	1,939	2,758	4,019	1,875	1,405	1,966
*OTRAS	3,451	3,429	3,938	4,373	3,627	4,875	5,537	4,139	2,752	3,361

*BAJA CALIFORNIA, GUERRERO, HIDALGO, JALISCO, MICHOACÁN, OAXACA, GUERÉTARO, QUINTANA ROO, TABASCO Y YUCATÁN.

Fuente: CONAPESCA, 2018

Según informe del COSAES (2018), la producción de camarón por acuicultura en Sonora, alcanzó un volumen de 65, 922 toneladas, con un incremento de 6 % con respecto al año 2017 (Figura 1).



Figura 1. Producción anual de camarón en Sonora.

El estado de Sonora produjo la mayor cantidad de camarón en el país en 2009, con una producción de 81,422 toneladas; sin embargo, en los años posteriores, por efecto de la enfermedad de las manchas blancas, los volúmenes fueron a la baja con registros en 2010, de 49,400 toneladas; en 2011, de 40,697, en 2012, de 35,305. En 2013, con la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* la producción de camarón cayó hasta 14,075 toneladas (COAES, 2013).

Desde 2013 al 2017 la actividad ha registrado una recuperación sustancial, pasando de 14,075 toneladas en 2013 a 65,922 toneladas, en 2017 (COAES, 2018) en gran parte, debido a la aplicación de buenas prácticas de manejo e incorporación de nuevas

tecnologías, incluyendo la renovación de los núcleos genéticos, por lo cual es posible proyectar a la camaronicultura como una actividad con un potencial de crecimiento sostenido, sin embargo la posible aparición de nuevas enfermedades es un riesgo latente para la actividad, el cual es necesario considerar en este momento.

I.1.2. Enfermedades del camarón

El cultivo de camarón es particularmente vulnerable a las pandemias de origen diverso, estas patologías pueden ser ocasionadas por agentes infecciosos como bacterias, protozoos, virus y hongos. La camaronicultura a nivel mundial, desde sus inicios en 1970, ha sido afectada por la aparición frecuente de estos patógenos

La aparición de enfermedades en la camaronicultura se ha generado en gran medida, debido a que ésta se ha convertido en una actividad industrial a gran escala. (Naylor y Burke 2005). En algunos casos estas enfermedades han terminado prácticamente con la actividad, como lo sucedido en Taiwán y en menor medida en Ecuador con el cultivo del camarón (Lightner 1996, Rodríguez *et al.* 2003, Sánchez-Martínez *et al.* 2007).

En la actualidad existen 9 enfermedades de crustáceos que han sido declaradas de notificación obligatoria por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), donde se incluyen las 8 publicadas en el Código Acuático y la nueva Enfermedad de la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas (AHPND por sus siglas en inglés) que fue recientemente incorporada

Lightner (2011) sostiene que del total de enfermedades que afectan la producción de camarón a nivel mundial, las más destacadas son IHHNV (virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa), TSV (virus del síndrome de Taura), WSSV

(virus de la mancha blanca), YHV (virus de la cabeza amarilla), e IMNV (virus de la myonecrosis infecciosa).

El síndrome de Taura (TSV). Este virus fue el causante de 60 % de pérdidas en la producción de camarón en 1992 en granjas ubicadas cerca del Río Taura en el Golfo de Guayaquil, Ecuador (Pinheiro *et al.* 2007). Inicialmente estuvo presente con infecciones severas; posteriormente la severidad disminuyó, pero a partir de 2003 y 2004 se presentaron de nuevo mortalidades considerables en algunas granjas debido a este patógeno.

La infección hematopoyética necrotizante (IHNV). Fue el primer virus detectado en 1990 en México en el cultivo de camarón azul, *L. stylirostris* (Lightner 1996, Jiménez *et al.* 1999), causando mortalidades masivas y llevando a los acuicultores a cambiar la especie por *L. vannamei*, una especie más resistente al virus. Actualmente este virus se sigue detectando en algunas granjas, aunque su patogenicidad ha disminuido.

El síndrome de la mancha blanca o *white spot syndrome virus* (WSSV), clasificado dentro de la familia de virus *Nimaviridae* (género *Whispovirus*). Fue detectado en América en 1999. Este virus ha sido considerado el patógeno número uno debido a la severidad de la infección, que provoca mortalidades masivas en los primeros días de cultivo (dentro de 7-10 días), principalmente cuando hay un cambio súbito en los parámetros ambientales (Sánchez-Martínez *et al.* 2007). En México los mayores impactos de este virus se han presentado en Sinaloa y sur de Sonora.

Virus de la cabeza amarilla (YHV), Yellow head virus, por sus siglas en inglés. Inicialmente algunos investigadores tailandeses reportaron que YHV era un

baculovirus citoplásmico Tipo B (virus de la granulosis) o un virus similar a un baculovirus y le asignaron el nombre de baculovirus de la cabeza amarilla o YHB. Sin embargo, al llevar a cabo una caracterización detallada se encontró que se trataba de un virus completamente nuevo, para el cual hubo necesidad de crear una nueva familia, conocida con el nombre de familia Roniviridae.

Bacterias del género *Vibrio*. Causan aproximadamente 10 % de las pérdidas en granjas de camarón. Las malas practica de manejo en los estanques es la principal causa de su presencia (Aguirre-Guzmán *et al.* 2003).

Las infecciones causadas por bacterias del género *Vibrio* se consideran un problema importante en el cultivo de camarones, teniendo como síntomas: anorexia, inactividad, baja tasa de crecimiento, necrosis muscular y, por consiguiente, mortalidad (Chiu *et al.*, 2007).

Las bacterias intracelulares tipo NHP, clasificadas como una α -proteobacteria, ha causado mortalidades de hasta 95 %, ocasionando pérdidas económicas a la industria camaronícolas en algunas granjas de los países de Norte y Sudamérica (Vincent y Lotz, 2007).

En 2012 y particularmente en 2013, los volúmenes de producción de cultivo de camarón disminuyeron como resultado de la aparición de diferentes enfermedades, como el síndrome de mortalidad temprana (EMS) causada por una cepa de *Vibrio parahaemolyticus*, en algunos países de Asia y América Latina (Tran *et al.*, 2013).

Las bacterias tipo vibrio son microorganismos comunes en todo el mundo, son de hábitats marinos, salobres y estuarinos y se desarrollan mejor en medios alcalinos con pH 7.6-9.0.

I.1.3. Sistema inmune del camarón

La defensa en crustáceos está basada en los hemocitos los cuales cumplen varias funciones, tal como: coagulación; fagocitosis; encapsulación y cicatrización de heridas (Johansson y Söderhäll, 1989, Hose y Martin, 1989, Bell y Smith, 1993, Bachère *et al.*, 1995).

El exosqueleto de los crustáceos es la primera barrera de defensa, biológicamente activa, con actividad antimicrobiana y actividad fenoloxidasa (Destoumieux *et al.*, 2000).

La segunda barrera de defensa que los crustáceos poseen, es un mecanismo innato apoyado por compuestos celulares humorales provenientes del sistema circulatorio, que es sintetizado en los hemocitos, donde se diferencian tres tipos de células (hemocitos hialinos, semigranulosos y granulosos), encargadas de la tarea de eliminar esos agentes extraños por medio de la fagocitosis, encapsulación, nodulación o melanización (Rendón y Balcázar, 2003).

I.1.4. Estrés oxidativo

Los radicales libres, los cuales están relacionados con el estrés oxidativo y se le considera otra línea de defensa contra patógenos, son átomos, moléculas o iones con un solo electrón en su última órbita, los cuales son muy activos con otras moléculas en las reacciones químicas; en los sistemas biológicos los radicales libres son por lo

general derivados de moléculas de oxígeno, nitrógeno y azufre. Estos radicales libres son partes de grupos de moléculas llamadas especies de oxígeno reactivo (ROS por sus siglas en inglés), especies de nitrógeno reactivo (ENR) y especies de azufre reactivo (EAR) (Lü *et al.*, 2010).

El término ROS engloba a moléculas que contienen oxígeno con distinta reactividad química, estas especies no sólo incluyen al superóxido ($O_2^{\cdot-}$) sino radicales hidroxilo, alcoxilo, peroxilo, óxido nítrico ($\cdot NO$) y dióxido de nitrógeno además de especies reactivas no radicales como el peróxido de hidrógeno, hipoclorito, peroxinitrito, singlete de oxígeno, peróxidos de lípidos entre otros, el descubrimiento de las enzimas, superóxido dismutasa (SOD), catalasa, peroxirredoxina, sulfiredoxinas y glutatión peroxidasa implicadas en la formación de al menos algunas formas de especies de oxígeno reactivo, pueden afectar si no son controladas (Schmidt *et al.*, 2015).

En estado normal del organismo existe un equilibrio entre la formación de especies de oxígeno reactivo (radicales libres) y los mecanismos de defensa de los antioxidantes endógenos, sin embargo, si este equilibrio es perturbado puede conducir al estrés oxidativo y al daño asociado (Aruselman *et al.*, 2016). Posteriormente en el caso de cantidades excesivas los ROS pueden ocasionar efectos deletéreos (Gammone *et al.*, 2015).

Los radicales libres atacan a todas las clases de biomoléculas principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de las membranas celulares, el daño oxidativo de los ácidos grasos es conocido como peroxidación lipídica (Nimse, 2015).

Cuando la capacidad del sistema antioxidante disminuye el nivel de ROS inactivado aumenta, en última instancia, se establece un nivel peligroso de estado redox y

aparecen las indeseables influencias de agentes oxidativos, lo que afecta a varios aminoácidos como tirosina, triptófano, histidina y específicamente cisteína, consecuentemente las proteínas ricas en dichos aminoácidos son los objetivos directos de los ROS y esta modificación mediada por los ROS puede alterar tanto la estructura y función de las proteínas además la generación de ROS conduce a una alteración de la permeabilidad mitocondrial y potencial de transición (Cichoz-Lach y Michalak, 2014).

Al activarse el estrés oxidativo hay un aumento de la enzima superóxido dismutasa (SOD) atacando las células, la cual convierte el radical anión superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno. Hay tres tipos principales de SOD en las células eucariotas, pero la que contiene el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) es CuZnSOD (que contiene cobre y zinc) (Tian *et al.*, 2011). Parte de la cascada de reacciones que genera el estrés oxidativo, con el fin de controlar los radicales libres, la catalasa es una enzima que transforma el H₂O₂ en agua y oxígeno. Esta enzima se localiza principalmente en los peroxisomas, pero también se ha detectado en el citoplasma y en la mitocondria (Tian *et al.*, 2011).

Las actividades de las enzimas SOD y catalasa protegen no sólo de forma directa eliminando aniones superóxido y peróxido de hidrógeno, respectivamente, sino que también impiden la formación del radical hidroxilo OH·, la especie reactiva derivada del oxígeno con mayor poder oxidante (Aguirre-Guzmán *et al.*, 2009).

I.1.5. Inmunoestimulantes en el cultivo de camarón.

Los antibióticos se han utilizado comúnmente como tratamiento contra las vibriosis. Aunque algunos de estos productos pueden disminuir la incidencia de mortalidad, el mal uso en la acuicultura ha llevado a la aparición de bacterias resistentes (Defoirdt *et al.*, 2011).

Por lo tanto, medidas para proteger los cultivos sin uso de antibióticos están siendo probados y adoptados por productores del mundo entero como el uso de aditivos alimentarios, que además de efecto en la salud, actúan en la nutrición, auxiliando en la mejora del desempeño de los camarones (Vieira *et al.*, 2017).

Las vitaminas son un complejo grupo de sustancias orgánicas requeridas por los camarones en pequeñas cantidades en su alimentación diaria, las cuales son esenciales para el mantenimiento, crecimiento, reproducción y mecanismos de defensa de los camarones y peces (Arango, 1996).

Una de las vitaminas que mayor atención ha recibido en nutrición acuícola ha sido la vitamina C. Tanto peces como camarones son especies vitamina C dependientes, esto quiere decir, que no tienen la capacidad para sintetizar las cantidades diarias requeridas para el crecimiento normal y reproducción. La vitamina C es necesaria para el mantenimiento de la integridad de los tejidos conectivos y actúa como un fuerte agente reductor dentro del organismo (Arango, 1996).

En siguiente tabla se puede observar los niveles requeridos y recomendados para camarones (Conklin, 1997; Lawrence *et al.* 1995).

Tabla 2. Niveles de vitaminas recomendados para camarón.

Vitamina		Niveles de vitaminas recomendados (UI o g/tonelada de alimento)	
		CONKLIN R.E. 1997	LAWRENCE L.A.ET AL 1995
Vitamina A	UI	5,000,000	6,000,000
Vitamina D	g	0.1	4,000,000
Vitamina E	g	100	300
Vitamina K	g	5	
Vitamina B1	g	60	50
Vitamina B2	g	25	40
Vitamina B6	g	50	60
Niacina	g	40	200
Acido pantoténico	g	75	75
Biotina	g	1	1
Acido fólico	g	10	10
Vitamina B12	g	0.2	0.1
Colina	g	600	400
Inositol	g	400	300
Vitamina C	g	200	750 o 75

En 1996, Arango y colaboradores, demostraron que hay una mejora significativa en peso final ($P \leq 0.10$), crecimiento semanal ($P \leq 0.10$), conversión alimenticia ($P \leq 0.005$) y total de libras cosechadas ($P \leq 0.005$) en camarones *L. vannamei*, alimentados durante todo el ciclo de producción con altos niveles de vitaminas comparado a niveles bajos de inclusión de vitaminas (Arango, 1999).

Existen muchas referencias del uso de acidificantes, ya sea solo o en combinación, sin embargo, con la experiencia se ha demostrado que son más efectivos en combinación, debido a que existe una amplia gama de patógenos que responden de manera distinta a estos compuestos (Rivera y Rodríguez, 2015)

Kuhlmann (2014), encontró que la incorporación de 0.3 y 0.5 % de diformiato de potasio en dietas para camarón blanco desafiado con *Vibrio harveyi* (5×10^6 UFC ml⁻¹)

1) aumentó la supervivencia en un 40 % comparado con el control negativo. El diformiato de potasio es una sal doble de ácido fórmico, el formiato unido al potasio es el 70 % de la molécula de diformiato de potasio, es una forma no corrosiva del ácido fórmico.

Rivera y Rodríguez (2015), demostraron que el uso de ácidos orgánicos en el alimento balanceado, mejoraron significativamente los indicadores de supervivencia, rendimiento por hectárea y adicionalmente registraron una disminución en el factor de conversión en dos ensayos realizados en campo, en unas pruebas realizadas en una camaronera de Ecuador.

En las pruebas realizadas se observó que las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) obtenidos con una mezcla de ácidos orgánicos, frente a cepas aisladas en laboratorio fueron de 150 ppm para *V. parahemolyticus*, 200 ppm para *V. vulnificus* y *V. harveyi*.

I.2 Justificación

En las últimas décadas las enfermedades han sido uno de los principales retos de la industria camaronera, tanto a nivel mundial como regional, ocasionando pérdidas millonarias y un gran número de empleos. Recientemente en México y en particular la zona noroeste, la presencia de enfermedades ha sido objeto de intenso estudio, pero aún no se tienen soluciones que resuelvan el problema en las granjas comerciales.

Derivado de esta problemática, la industria ha recurrido a una gran variedad de productos terapéuticos, tanto comerciales como de tipo artesanal, con el objetivo de

minimizar el impacto de los patógenos. El uso de diversos insumos representa inversiones adicionales, que en la mayoría de los casos se traduce en un aumento en los costos de producción, sin obtener una respuesta positiva en los cultivos.

El presente estudio tiene el propósito de evaluar, el producto comercial FEEDAD en un cultivo comercial, con el objetivo evaluar su eficacia en el combate a las enfermedades bacterianas presentes en los cultivos de la región. Los resultados brindarán a los productores información relacionada con el uso y en su caso las dosis adecuadas del producto mencionado.

I.3 Planteamiento del problema

Los organismos en cultivo, constantemente están expuestos a condiciones de estrés, ya sea por la alteración de factores ambientales, como la temperatura, salinidad, oxígeno, pH o por una deficiente alimentación. El estrés generado por las condiciones ambientales adversas, provocan que los organismos canalicen energía para minimizar los efectos negativos, este fenómeno disminuye el crecimiento y en casos extremos se registra la aparición de enfermedades.

El sistema inmunológico del camarón, es afectado por condiciones ambientales adversas, limitando su eficiencia contra el ataque de patógenos. El estrés en los camarones se presenta inicialmente a niveles bioquímicos y moleculares, induciendo una serie de respuestas funcionales y estructurales en la regulación hormonal, metabolismo, osmoregulación y regulación inmunológica, afectando la capacidad de sobrevivencia, crecimiento y reproducción. Aun cuando los organismos acuáticos se

observen aparentemente sanos durante o inmediatamente después de un periodo de estrés, la enfermedad se puede manifestar después en la población, e incluso con mortalidades crónicas. Muchos de los organismos de una población pueden ser portadores asintomáticos de un patógeno y en condiciones normales están protegidos por los mecanismos de defensa. Cuando el sistema de defensa es debilitado o suprimido debido al estrés, el patógeno puede multiplicarse, rebasar los mecanismos de defensa y en ocasiones matar al hospedero (Gómez-Gil *et al.*, 2001).

En estas condiciones de estrés los requerimientos nutricionales del camarón aumentan, debido a la demanda de energía que requiere el organismo para llevar a cabo los procesos fisiológicos necesarios para enfrentar estas condiciones adversas.

Tomando en cuenta que uno de los principales retos a los que se enfrenta la camaronicultura es la presencia de las enfermedades virales y bacterianas, es de suma importancia el estudio del sistema inmune del camarón (Arala-Chavez y Siqueiros, 2000)

Uno de los problemas con los que se ha enfrentado la industria ha sido la falta de criterios para la evaluación de la condición nutricional y de salud de los animales en cultivo. Actualmente muchas de las decisiones que implican el uso de aditivos alimenticios se han basado en observaciones relacionadas con el consumo de alimento, algunas alteraciones en sus características morfológicas o los análisis bacteriológicos realizados en las granjas. Desafortunadamente con ninguno de estos

métodos es posible establecer con rapidez el estado nutricional y de salud de los animales lo que puede generar la toma de decisiones equivocadas (Rosas *et al*, 2002).

En este contexto, el uso de aditivos en las dietas comerciales se ha vuelto una práctica común entre los productores de camarón que tiene el objetivo de fortalecer el sistema inmune de los camarones.

Esta práctica se ha adoptado como una herramienta en sus procesos, sin embargo, no existe evidencia documentada a nivel de cultivo, del efecto que tiene esta práctica sobre la estimulación de la respuesta inmune del camarón; aunque Bricknell y Dalmo (2005) indican que el uso de aditivos como suplementos dietéticos, puede mejorar la defensa innata de los organismos y ofrecer resistencia a agentes patógenos en los períodos de alto estrés.

Por lo tanto, se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿La adición del producto FEEDAD en las dietas comerciales, estimulan el sistema inmune de los camarones en cultivo, causando efecto positivo en la sobrevivencia en presencia del patógeno *Vibrio parahemolyticus*?

I.4. Hipótesis

El producto comercial FEEDAD adicionado en el alimento comercial incrementa la capacidad de *L. vannamei* de sobrevivir en presencia del patógeno *V. parahemolyticus*, ya que mejora su respuesta inmune y la actividad de las enzimas antioxidantes.

I.5. Objetivos

General

Evaluar el efecto en la supervivencia y respuesta inmune del producto FEEDAD, en un cultivo comercial de *L. vannamei* en presencia de *Vibrio parahemolyticus*.

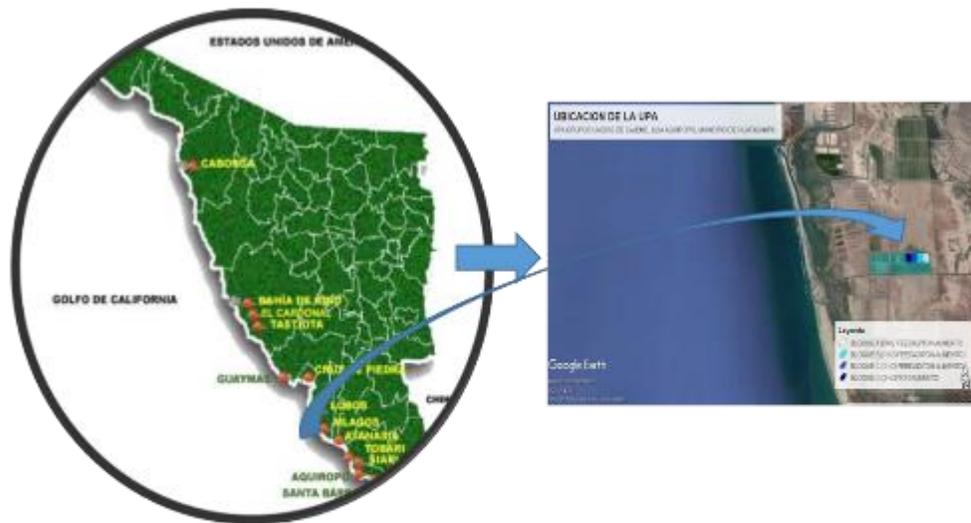
Específicos

1. Medir los parámetros fisicoquímicos más importantes (oxígeno, temperatura, salinidad y pH), en un cultivo comercial de *L. vannamei* para determinar si existen diferencias significativas entre los estanques en tratamientos y estanques control.
2. Evaluar el efecto de FEEDAD en la supervivencia, crecimiento y factor de conversión alimenticia en *L. vannamei* en un cultivo comercial.
3. Evaluar el efecto de FEEDAD en la supervivencia, respuesta inmune y actividad enzimática antioxidante de *L. vannamei* en presencia de *V. parahemolyticus* en condiciones controladas.

II. Metodología

II.1. Ubicación

La parte experimental de la aplicación del producto FEEDAD en campo, se realizó en la unidad de producción, ubicada en la zona sur del estado de Sonora, en la JLSA AQUIROPO, en el municipio de Huatabampo (Figura 3).



Figura

3. Ubicación de la unidad de producción donde se realizó el cultivo de prueba

Para realizar el bioensayo, que consistió en exponer a los organismos a una infección con *Vibrio parahemolyticus*, se instaló un módulo experimental en el laboratorio de la UES Navojoa.

II.2. Diseño experimental

Para la prueba de aplicación del producto FEEDAD, se utilizó un diseño completamente al azar, evaluando cuatro dosis del producto (0, 1, 2 y 3 g FEEDAD/kg de alimento), se utilizaron estanques tradicionales (rustico con fondos de tierra), para lo cual se seleccionaron 12 estanques de 1 hectárea de superficie, con características similares en cuanto a tamaño, profundidad, tanto en los estanques con tratamiento como los controles. Las pruebas se hicieron por triplicado (Figura 4).



Figura 4. Estanques de prueba, Estanques 1, 2,3 (Control), 4, 5,6 Tratamiento 1 (1 g FEEDAD/Kg de alimento), 7, 8,9 Tratamiento 2 (2 g FEEDAD/Kg de alimento), 10, 11,12 Tratamiento 3 (3 g FEEDAD/Kg de alimento).

Para la prueba en laboratorio se utilizó un diseño completamente al azar, se utilizaron acuarios de 60 litros, tres acuarios por tratamiento (Figura 5).



Figura 5. Sistema de cultivo a escala laboratorio utilizado para el reto bacteriano.

II.3. Evaluación del producto FEEDAD en un cultivo comercial

II.3.1 Preparación y siembra de los organismos

Los estanques seleccionados para la siembra de los organismos se prepararon de acuerdo al protocolo sanitario establecido en el boletín oficial del estado de Sonora para las acciones pre operativas (Secado, rastreo y llenado).

Para la siembra se utilizaron postlarvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), con un peso promedio de 5 miligramos, provenientes de un laboratorio de producción certificado, previamente analizadas para asegurar que estuvieran libres de patógenos. Los estanques fueron sembrados a una densidad de 220,000 organismos por hectárea.

II.3.2. Inclusión del aditivo

Se utilizaron cuatro dosis del producto FEEDAD incluido en el alimento comercial: 0, 1, 2 y 3 g/kg de alimento. El aditivo fue adicionado diariamente al alimento comercial manualmente en la granja, mediante el uso de una mezcladora y re envasado para su posterior aplicación (Figura 6).



Figura 6. Incorporación del aditivo en la granja mediante el uso de una mezcladora.

II.3.3. Alimentación

Los organismos fueron alimentados desde el primer día de sembrado, hasta los 105 días de cultivo, iniciando con alimento granulado hasta los 3 gramos de peso promedio y se cambió a pellet 3/32 manteniéndose así durante todo el cultivo. La dosificación fue de acuerdo a una tabla de alimentación, y se ajustó a partir de los 300 kg/ha de biomasa, mediante el uso de charolas para el monitoreo de consumo. El alimento total diario se aplicó en tres raciones a razón del 20, 30 y 50 %, a las 06:00, 12:00 y 18:00 horas.

II.3. Monitoreo de parámetros físico químicos

Desde el primer día de llenado se midieron diariamente los principales parámetros fisicoquímicos como el oxígeno, temperatura, salinidad y pH. El oxígeno y la temperatura se midieron, mediante un oxímetro portátil, dos veces al día, a las 06:00 y 18:00 horas. La salinidad una vez al día, con un refractómetro, El pH se midió una vez al día, mediante un dispositivo portátil.

II.3.2. Monitoreo de parámetros productivos

Para determinar los parámetros productivos se realizaron muestreos semanales de crecimiento, complementados con muestreos ocasionales para estimar la población total de organismos.

II.3.3. Monitoreo de salud

Se realizaron monitoreos periódicos de la salud de los organismos, mediante revisión visual de sus características externas y signos clínicos, además se tomaron organismos de manera aleatoria para transportarlos vivos al laboratorio de análisis en fresco y análisis de bacteriología por TCBS y chromoagar para determinar y cuantificar la presencia de bacterias del genero *Vibrio* sp, en hepatopáncreas.

Las muestras de organismos vivos fueron trasladados al Laboratorio de sanidad Acuicola del Instituto Tecnológico de Sonora para los análisis correspondientes determinar la presencia de *Vibrio parahemolyticus*.

II.4. Reto bacteriano de *L. vannamei* infectado con *V. parahemolyticus* en condiciones controladas.

II.4.1. Transporte de los organismos

Después de 15 semanas de cultivo, donde se aplicó el alimento adicionado con FEEDAD en la granja comercial, los organismos fueron trasladados al laboratorio de bioensayos de la UES Unidad Académica Navojoa, para evaluar el efecto en presencia de *V. parahemolyticus*.

Se seleccionaron 15 organismos al azar de cada uno de los estanques y fueron colocados en un recipiente de 20 litros y aclimatados a 18 grados para su transporte a la unidad experimental en la UES (Figura 7).



Figura 7. Selección y transporte de organismos.

II.4.2 Reto Bacteriano

II.4.2.1. Recepción de los organismos

Para realizar el bioensayo del reto bacteriano se usaron 12 recipientes de plástico de forma rectangular de 60 litros de capacidad. Se utilizaron 8 organismos con un peso promedio de 13 gramos, de cada tratamiento, incluyendo el control, cada uno por triplicado. Los tratamientos fueron distribuidos al azar.

II.4.2.2. Cepa bacteriana

La cepa de *V. parahemolyticus* fue obtenida del laboratorio de acuicultura del Instituto Tecnológico de Sonora, en Ciudad Obregón, la cual fue activada en el laboratorio de investigación de la UES.

II.4.2.3. Inoculación de *V. parahemolyticus*

Se inyectaron los organismos testigo (3 acuarios) con solución salina (2.5%) y el resto de los organismos provenientes de los tratamientos 1, 2 y 3 se inocularon por inyección a una dosis de 1×10^{-3} UFC/ g organismo, dejando sin inocular los organismos provenientes de los estanques control (Figura 8).



Figura 8. Proceso de infección con el inóculo bacteriano.

II.4.2.5. Registro de mortalidad

Los organismos se mantuvieron en observación durante 30 horas y se registró la mortalidad a las 3, 12, 24 y 30 horas, para evaluar la mortalidad acumulada por efecto de los tratamientos (Figura 9).



Figura 9. Seguimiento a la mortalidad acumulada en cada tratamiento

II.4.2.6. Evaluación de la respuesta inmune

II.4.2.6.1. Conteo total de hemocitos

Se tomaron muestras de hemolinfa para las determinaciones del conteo total de hemocitos (Campa-Córdova *et al.*, 2002).

La hemolinfa de los camarones fue obtenida por medio de la punción del primer segmento abdominal con la ayuda de una jeringa con anticoagulante (450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM EDTA-Na₂, 10 mM HEPES, pH 7.3, 850 mOsm/kg)(Campa-Córdova *et al.*, 2002).

De cada acuario se tomaron tres organismos, a cada uno se les extrajo de 100 a 300 μ l de hemolinfa, como se describió anteriormente, donde la jeringa contenía 300 μ l de la solución anticoagulante. El contenido de la jeringa (anticoagulante y hemolinfa) se colocó en tubos Eppendorf™ de 2.0 ml. Estas muestras ya etiquetadas se colocaron inmediatamente en hielo para mantenerlas a 4 °C para su inmediato análisis. Para realizar el conteo de hemocitos se utilizó un hematocitometro 0.1 mm de profundidad

y con la ayuda de un microscopio compuesto se calculó la densidad, expresando los resultados en $\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Figura 10).

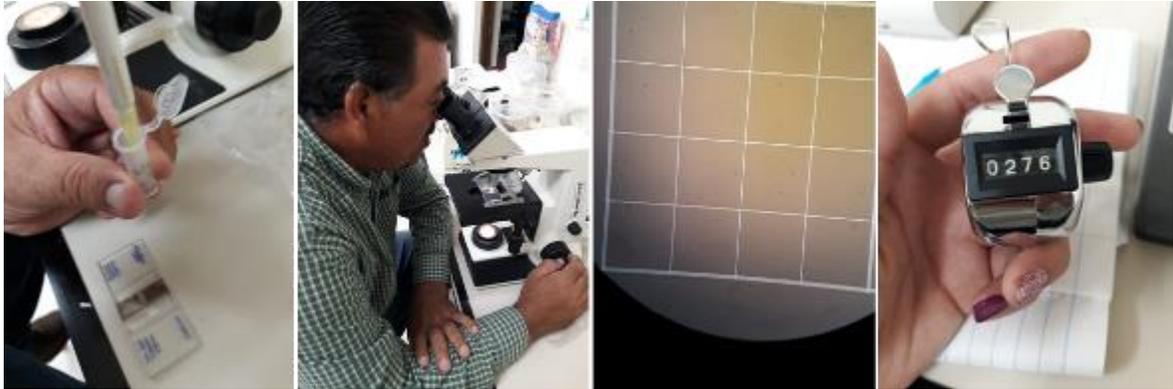


Figura 10. Proceso de conteo de hemocitos mediante el uso de hematocitómetro y microscopio compuesto

II.5. Análisis estadístico

Los datos de mortalidad, conteo de hemocitos y actividad enzimática fueron analizados realizando un análisis de varianza de una vía, y una posterior prueba de comparación de medias de Tukey, en caso de encontrar diferencias significativas. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software Statistica 5.1 para Windows, Statsoft Inc.

III. Resultados y Discusión

III.1 Indicadores productivos

En la tabla 3, se presentan los parámetros fisicoquímicos del agua de cultivo en estanquería rústica, los resultados presentados son promedios de las mediciones realizadas durante la mañana y tarde de los 160 días de cultivo.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos del agua en los estanques de cultivo de *L. vannamei* alimentados con diferentes dosis de FEDADD.

Tratamiento (g/kg)	Temperatura (C)	Oxígeno (mg/L)	Salinidad (g/L)	pH
Control	30.4±0.2	5.0±0.2 ^a	40.0±1.0	8.6±0.1
1	30.2±0.2	5.4±0.2 ^a	38.3±0.6	8.7±0.1
2	30.4±0.3	4.7±0.3 ^b	39.3±0.6	8.6±0.0
3	30.4±0.3	4.9±0.2 ^b	40.0±0.0	8.6±0.1

Temperatura

La temperatura determina la solubilidad de los gases en el agua, la velocidad de reacción química y la toxicidad del amonio. El rango ideal de temperatura, para el crecimiento de *L. vannamei* se considera de 25 a 32 °C (Chien, 1992; Boyd, 1989).

La temperatura promedio durante el periodo del cultivo en esta investigación no presentó diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos ni el control,

manteniéndose entre 30.2 y 30.4 °C, valor promedio dentro del rango recomendado para esta especie.

Oxígeno

La concentración mínima de oxígeno para mantener una tasa aceptable de sobrevivencia varía con el tiempo de exposición (Páez, 2001; Boyd, 1992). En concentraciones bajas de oxígeno disuelto, los camarones son más susceptibles a enfermedades. Cuando el porcentaje de saturación permanece por debajo de 5 mg/L los camarones presentan bajas tasas de alimentación y crecimiento. Los valores mínimos recomendados por expertos oscilan de entre 4 y 5 mg/L (Martínez, 1994; Chien, 1992).

Los valores del oxígeno en mg/L registrados en cada uno de los tratamientos (Tabla 3), presentaron diferencias significativas, pero en todos los casos dentro del rango recomendado por Brock y Main (1994). El control y el tratamiento 1 presentaron una concentración de oxígeno disuelto significativamente mas alta que el resto de los tratamientos.

Salinidad

En las respuestas fisiológicas de los peneidos eurihalinos, los factores ambientales considerados con mayor influencia son la temperatura y la salinidad, porque les provocan efectos biológicos de gran complejidad (Wyban *et al.*, 1995).

Resultados de diferentes investigaciones muestran que la supervivencia y la tasa de crecimiento de este organismo dependen de la temperatura (Wyban *et al.*, 1995), la

salinidad (Bray *et al.*, 1994) y de la interacción temperatura-salinidad (Ponce Palafox *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2006).

Los valores registrados de salinidad en el presente estudio, fueron estadísticamente iguales, aunque ligeramente por encima del rango óptimo, según Brock y Main (1994), que sugiere un rango de tolerancia de 15 a 35 g/L.

Aunque en la práctica se ha podido observar que el camarón puede tolerar salinidades desde 2 hasta 50 g/L, en condiciones de cultivo, sin embargo, el mejor desempeño en crecimiento, sobrevivencia y FCA se obtiene bajo condiciones cercanas a su punto isosmótico.

Esta especie es conocida por habitar en un amplio intervalo de salinidades desde 1-2 g/l hasta 40 g/L (Menz y Blake, 1980). *L. vannamei* exhibe un patrón de regulación hiperosmótico en bajas salinidades y un patrón de regulación isosmótico en altas, con un punto isosmótico entre 25-26 g/L (Castille y Lawrence, 1981; Díaz *et al.*, 2001;

En la práctica se ha visto que un manejo inadecuado del recambio diario en las unidades de producción, puede generar un deterioro en la calidad de agua en cultivos semiintensivos, llegando a ocasionar caídas de oxígeno hasta presentar valores cercanos a 1 mg/l durante la noche además de un aumento en la salinidad debido a las altas temperaturas que se presentan en verano. La exposición prolongada a niveles inferiores de oxígeno ocasionan un estrés en los organismos, haciéndolos más susceptibles a las enfermedades o provocarles la muerte por anoxia, afectando las tasas de consumo de alimento, crecimiento semanal y sobrevivencia final. Por otro lado, la salinidad alta expone a los organismos en cautiverio a condiciones estresantes, causadas por la inversión energética para compensar la diferencia osmótica del medio

y su interior, lo que puede repercutir en un decremento en su tasa de crecimiento y una menor sobrevivencia.

Crecimiento

En la tabla 4 se muestran los resultados zootécnicos de los diferentes tratamientos. No se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. El peso final después de 160 días de cultivo varió de 14.7 a 15.7 g.

Tabla 4. Resultados finales (160 días) de producción en estanquería rústica de *L. vannamei* alimentado con diferentes dosis de FEEDADD.

Tratamiento (g/kg)	Peso Final (g)	Biomasa (kg)	FCA	Sobrevivencia (%)
Control (0)	15.3±0.6	733.3±127.0	1.6±0.2	28.9±3.8
1	15.7±0.6	685.7±149.3	1.7±0.4	24.4±3.8
2	14.7±0.6	645.3±25.4	1.8±0.1	26.7±0.0
3	15.0±1.0	675.0±135.9	1.6±0.2	28.9±3.8

No se encontraron diferencia significativa entre las medias de los tratamientos ($p>0.05$).

En la figura 12, se muestra la curva de crecimiento de *L. vannamei* durante 160 días, en estanquería rústica. No se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos.

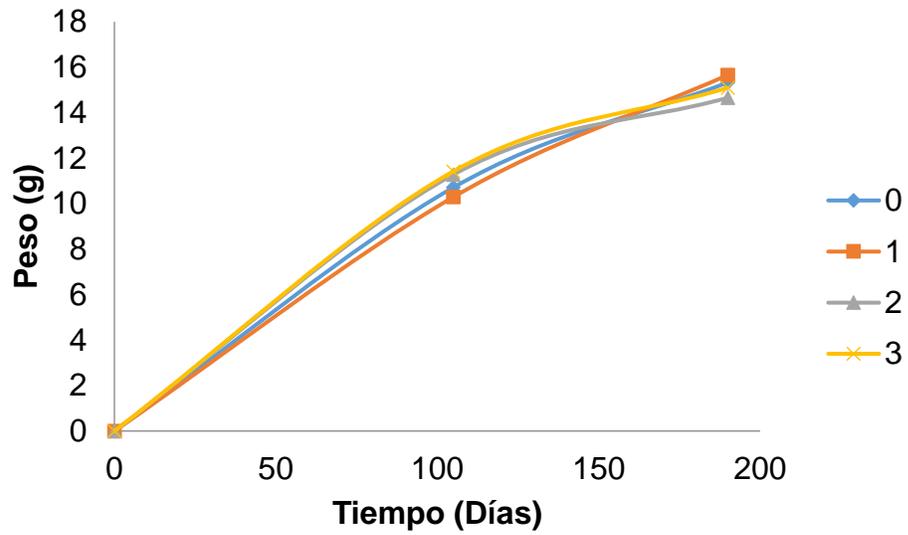


Figura 12. Crecimiento de *L. vannamei* en estanquería rústica alimentado con diferentes dosis de FEDADD.

III.2. Reto bacteriano de *L. vannamei* alimentado con diferentes dosis de FEDADD en presencia de *V. parahaemolyticus*

En la figura 13, se muestra la mortalidad acumulada de *L. vannamei* infectado con *V. parahaemolyticus*, se observa que a las tres horas post infección (PI) no se presentó mortalidad en ninguno de los tratamientos ni en el control no infectado, disparándose la mortalidad a partir de las 12 horas PI, resultando en una mortalidad significativamente mayor en los organismos previamente alimentados con 2 y 3 g/kg de FEDADD.

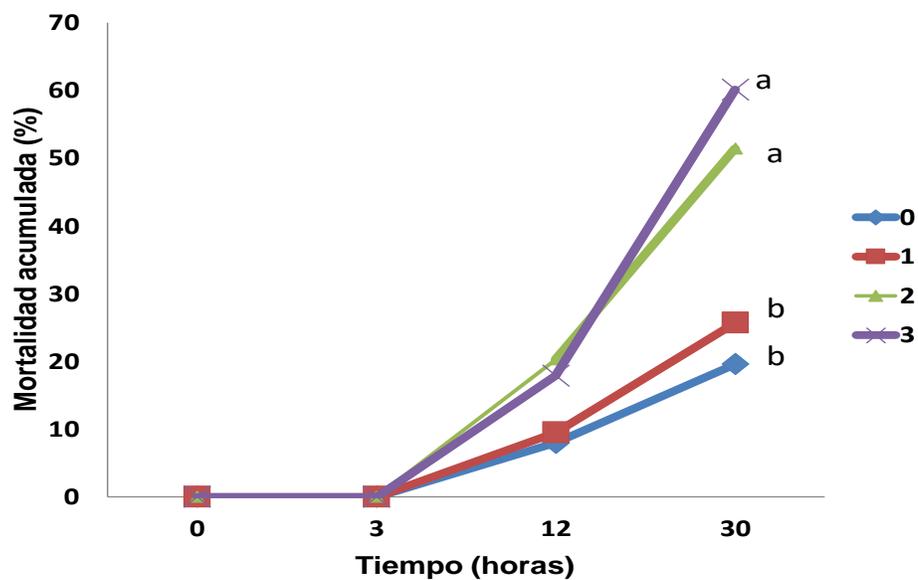


Figura 13. Mortalidad acumulada de *L. vannamei* alimentado con 1,2 y 3 gramos por Kg de FEDADD infectados con *V. parahaemolyticus*, y un control positivo (0) sin infectar.

En la gráfica se observa que a las tres horas post infección (PI) no presentaron mortalidad en ninguno de los tratamientos ni en el control no infectado, disparándose

la mortalidad a partir de las 12 horas PI, resultando en una mayor mortalidad a las 30 horas en los tratamientos 2 y 3.

La mortalidad acumulada se observa que no existieron diferencias significativas, entre el tratamiento 1 y el control, y entre el tratamiento 2 y 3, observándose que el tratamiento 1 resultó con menos mortalidad en comparación de los tratamientos 2 y 3. El tratamiento 3, donde se aplicó la dosis más alta (3 g de FEEDAD/Kg de alimento), la mortalidad fue mayor, posiblemente por una sobredosis (Figura 10). El tratamiento 1 y el control presentaron menor mortalidad acumulada.

Lo anterior pudo deberse a un agotamiento en el sistema inmune debido a que los camarones se inmunoestimularon demasiado tiempo y de manera continua (Campa et al 2011).

Sajeevan *et al.* (2006) observaron un efecto parecido en la supervivencia, pero relacionado con la frecuencia de aplicación del tratamiento en *Fenneropenaeus indicus* alimentado con una dieta suplementada con glucanos, donde el mejor tratamiento fue al que se alimentó cada 7 días con dicha dieta, ellos obtuvieron una disminución en la supervivencia relacionada con la frecuencia de la dosis, es decir, si aumentaba o disminuía.

Peraza-Gómez (2008) menciona que el aumento en el número de hemocitos pudo haber sido inducido por componentes de la pared celular de la mezcla inmunoestimulante (peptidoglucanos de las BAL y β -glucanos de la levadura).

Tabla 5. Conteo total de hemocitos en hemolinfa, proteína soluble y actividad de enzimas antioxidantes del músculo de camarón infectado con *V. parahaemolyticus*

Tratamiento (g/kg)	Conteo total de hemocitos (UFC/mLx10 ⁶)	Proteína soluble (µg/mL)
Control (0)	15.9±5.4 ^a	0.23±0.02 ^a
1	4.0±0.7 ^b	0.23±0.01 ^a
2	4.6±0.8 ^b	0.21±0.00 ^a
3	10.7±0.5 ^{ab}	0.26±0.04 ^a

Conteo total de hemocitos (CTH)

Los resultados indican que el tratamiento 3 presenta diferencias significativas con respecto al control y los tratamientos 1 y 2, entre los tratamientos 1 y 2 no presentaron diferencias, pero si contra el control y el tratamiento 3.

El conteo total de hemocitos (CTH), incremento en relación a la a dosis de producto aplicado en la dieta, aunque esto no tuvo un efecto proporcional a la mortalidad presentada entre los tratamientos durante el proceso de la infección.

Estos resultados son de alguna manera similares a los reportados por Campa et al 2011, donde después de aplicar una mezcla de inmunoestimulantes (MI) a base de bacterias ácido lácticas y 1 levadura en tres tratamientos diferentes en diferentes frecuencias (diario, cada 3 y 6 horas) contra dos controles (control I no infectado y control II infectado con vibrio) encontró que los organismos alimentados diariamente

con la MI presentaron un mayor número de hemocitos con respecto a los alimentados cada 3 y 6 días, sin embargo no mejoró la supervivencia.

Por el contrario, la MI administrada cada 3 días (Tratamiento III) mejoró significativamente la supervivencia de los camarones respecto al control II (organismos alimentados con la dieta control e infectados) Por otro lado, en este trabajo la MI administrada diariamente incrementó significativamente los hemocitos respecto al control II; sin embargo, no mejoró la supervivencia.

Scholz et al. (1998), Cedeño et al. (1999) reportaron que una inmunoestimulación excesiva en *P. vannamei* coincidió con estimulación de la actividad fenoloxidasa (PO) y actividad antibacteriana, pero se acompañó no solo de pérdida de peso de los animales, sino también de reducción del número de hemocitos circulantes y de la concentración de proteínas plasmáticas. Todo esto en relación con la dosis de estimulante utilizada.

Un sistema inmune sobreexcitado en animales pobremente alimentados no se traduce forzosamente en protección (Scholz et al. 1998, Cedeño et al. 1999)

IV. Conclusiones

El uso del aditivo FEEDADD no presentó un efecto en el crecimiento, FCA ni sobrevivencia del camarón cultivado en estanquería rústica.

El aditivo FEEDADD a una dosis de 1kg/ton de alimento presentó un efecto positivo en la supervivencia en camarones infectados con *Vibrio parahaemolyticus*, por lo cual se puede recomendar su uso para el control de esta enfermedad bacteriana, bajo las condiciones de este trabajo.

V. Recomendaciones

El uso de este protocolo deberá de ser utilizado, acompañado de un monitoreo del estado de muda del camarón. Es necesario recomendar para futuros ensayos en condiciones de cultivos comerciales mantener una supervisión de tiempo completo para asegurar en lo posible las variables sugeridas.

VI. Literatura citada

- Aguirre-Guzmán G., Labreuche Y., Ansquer D., Espiau B., Levy P., Ascencio F. y Saulnier D. (2003). Proteinaceous exotoxins of shrimp-pathogenic isolates of *Vibrio penaeicida* and *Vibrio nigripulchritudo*. *Cienc. Mar.* 29, 77-88.
- Arango, G, J.I. Evaluación de Premezclas vitamínicas en dietas para camarones *Penaeus vannamei* In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D. y Mendoza Alfaro, R. Editores. 1999. Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposio Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos. 1999. 11-13 noviembre, 1999. Monterrey, N.L., México. ISBN 968-7808-62-4. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L. México. Páginas 651-663.
- Bachère, E; Mialhe, E. (1995a). Knowledge and research prospects in marine mollusc and Crustacean immunology. *Aquaculture*, 132,17-32.
- Boyd, C. 1989. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. Fisheries and allied aquaculture departmental. Series N° 2. Alabama Agricultural Experiments Stations, Auburn University, Alabama. 70p.
- Bray, W. A., A. L. Lawrence & J.R. Leung-Trujillo. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHN virus, and salinity. *Aquaculture* 122: 133-146.
- Bricknell, I. y Dalmo, R.A., 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture *Fish & Shellfish Immunology* 19 (5) 457-472

Brock J & KL Main. 1994. A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*, 242 pp. World Aquaculture Society, Baton Rouge.

Campa-Córdova, A. et al. 2010. Respuesta inmune y antioxidante en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, expuesto a inmunoestimulantes y probióticos. En: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J. (Eds), Avances en Nutrición Acuícola X - Memorias del Décimo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 8-10 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 567-587.

Campa, A. y A. Luna. 2011. Respuesta inmune en camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, expuesto a infecciones bacterianas y virales. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Hernández-Hernández, L. (Eds), Avances en Nutrición Acuícola XI - Memorias del Décimo Primer Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 23-25 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-775-4. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 317-344.

Castille, F. L. & A. L. Lawrence. 1981. The effect of salinity on the osmotic and chloride concentration in the haemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 68A: 75-85.

- Clifford, H.C. 1997. Manual de operación para el manejo de super shrimp en estanques. Súper Shrimp SA de CV. División de Servicios Técnicos, 105 pp.
- Chien, Y. 1992. Water Quality Requirements and Management for Marine Shrimp Culture. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Society, USA, 144 – 156.
- Destoumieux, D. Cols. (2000). Penaeidins, a family of antimicrobial peptides from penaeid Shrimp (Crustacea, Decapoda). CMLS, Cellular and Molecular Life Science, 57, 1260-1260.
- Gómez-Gil, B., Roque, A y Guerra-Flores, A.L, 2001. Enfermedades infecciosas más comunes en la camaronicultura en México y el impacto del uso de antimicrobianos. En: Páez-Osuna F (Ed) Camaronicultura y medio ambiente. ICMYL-UNAM, México. P 315 – 343
- Itami, T., Takahashi, Y. and Nakamura, Y. (1989). Efficacy of vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawns *Penaeus japonicus*. J. Aquat. Anim. Health, 1: 238–242.
- Itami, T., Asano, M., Tokushige, K., Kubono, K., Nakagawa, A., Takeno, N., Nishimura, H., Maeda, M., Kondo, M. and Takahashi, Y. (1998). Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. Aquaculture, 164: 277–288.
- Jiménez R., Barniol R., de Barniol L. y Machuca M. (1999). Infection of IHNV virus in two species of cultured penaeoid shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) and

Litopenaeus stylirostris (Stimpson) in Ecuador during El Niño 1997-98. *Aquac. Res.* 30, 695-705.

Johansson & Söderhäll. (1989). Cellular immunity in crustaceans and the proPo system *Parasitology Today*, 5(6), 171-176.

Lightner D.V. (1996). Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas. *Rev. Sci. Tech. OIE.* 15, 579-601

Luna-González, Antonio, Moreno-Herrera, Jesús T, Campa-Córdova, Ángel I, González-Ocampo, Héctor A, Fierro-Coronado, Jesús A, Álvarez-Ruiz, Píndaro, & Bueno-Ibarra, Mario A. (2013). Respuesta inmune y expresión de genes en el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) inducida por inmunoestimulantes microbianos. *Latin American journal of aquatic research*, 41(5), 898-907.

Martínez-Córdova, L.R. 1999. Cultivo de camarones peneidos. AGT Editor, México DF, 283 pp.

Menz, A. & B. F. Blake. 1980. Experiments on the growth of *Penaeus vannamei* Boone. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 48: 99-111.

Miranda-Esquer, E., Nieves-Soto, M., Rivas-Vega, M.E., Miranda-Baeza, A. y Piña-Valdez, P. 2016. Efecto de extractos metanolicos de macroalgas *Caulerpa sertularioides* y *Ulva lactuca* sobre la sobrevivencia de *Litopenaeus vannamei*

en presencia de bacterias del genero *Vibrio*. En Fish & Shellfish Immunology. Elsevier 2016. P 346-350

Naylor R. y Burke M. (2005). Aquaculture and ocean resources: Raising tigers of the sea. Annu. Rev. Env. Resour. 30, 185-218.

Pinheiro A.C.A.S., Lima A.P.S., de Souza M.E., Neto E.C. L., Adriano M., Goncalves V.S.P. y Coimbra M.R.M. (2007). Epidemiological status of Taura syndrome and infectious myonecrosis viruses in *Penaeus vannamei* reared in Pernambuco (Brazil). Aquaculture 262, 17-22.

Ponce Palafox, J., C. A. Martinez Palacios, & L. G. Ross. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931. Aquaculture 157: 107-115.

Prieto, A., & Auró de Ocampo, A., & Fernández, A., & Pérez, M. (2005). El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de uso en Cuba y México. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8 (1), 38-49.

Rendón, L., & Balcázar, J. (2003). Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances. AquaTIC, (19), 27-33.

Rodríguez J., Bayot B., Amano Y., Panchana F., de Blas I., Alday V. y Calderon J. (2003). White spot syndrome virus infection in cultured *Penaeus vannamei* (Boone) in Ecuador with emphasis on histopathology and ultrastructure. J. Fish Dis. 26, 439-450

Rodríguez, J., Cedeño, R., Molina, C., Otero, V., Valenzuela, E., Sotomayor, M.A., 2000. Efecto de la calidad de la dieta sobre la respuesta inmune del camarón *Penaeus vannamei*. En: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A y Civera-Cerecero, R. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 2000. Mérida, México. P 55-71

Rosas, C., Pascual, C., López, N., Sánchez, A., 2002. Metabolitos sanguíneos como herramientas para evaluar el estado nutricional de camarones peneidos. En: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 2002. Cancún, México. P 55-72

Sánchez-Martínez J.G. Aguirre-Guzmán G. y Mejía-Ruiz H. (2007). White spot syndrome virus in cultured shrimp: A review. *Aquac. Res.* 38, 1339-1354.

Sánchez-Paz, A., Mendoza-Cano, F., Enríquez-Espinoza, T., Encinas-García, T., Portillo-Clark, G y Grijalva-Chon, M, 2014., Síndrome de la mortalidad temprana del camarón. *Revista ciencia y desarrollo*, Enero-Febrero 2014. <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/269/articulos/sindrome-mortalidad-temprana-camaron.html>

Sajeevan T.P., Rosamma P., Bright-Singh I.S. (2006) Immunostimulatory effect of a marine yeast *Candida sake* S165 in *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* **257**, 150–155.

Vincent A.G. y Lotz J.M. (2007). Advances in research of necrotizing hepatopancreatitis bacterium (NHPB) affecting penaeid shrimp aquaculture. *Rev. Fish. Sci.* 15, 63-73.

Wyban, J., W. A. Walsh, & D. M. Godin. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138: 267-279.

Whetstone, J.M., G.D. Treece, C.L. Browdy & A.D. Stokes. 2002. Opportunities and constraints in marine shrimp farming. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication N°2600, Washington D.C., 8 pp.